

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2003 年 10 月 9 日 (09.10.2003)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 03/082321 A1

- (51) 国際特許分類⁷: A61K 38/22, 藤枝市 源助 301 科研製薬株式会社 総合研究所内
47/32, 47/36, 47/38, A61P 1/02 Shizuoka (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/JP03/04166 (74) 代理人: 津国 肇 (TSUKUNI, Hajime); 〒105-0001 東京
都港区 虎ノ門 1 丁目 2 番 1 2 号 SVAX T S ビ
ル Tokyo (JP).
- (22) 国際出願日: 2003 年 4 月 1 日 (01.04.2003)
- (25) 国際出願の言語: 日本語 (81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB,
BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK,
DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU,
ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS,
LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI,
NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK,
SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN,
YU, ZA, ZM, ZW.
- (26) 国際公開の言語: 日本語 (84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ,
SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM,
AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許
(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB,
GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR),
OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- (30) 優先権データ:
特願 2002-98977 2002 年 4 月 1 日 (01.04.2002) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 科研製薬
株式会社 (KAKEN PHARMACEUTICAL CO., LTD.)
[JP/JP]; 〒113-8650 東京都文京区本駒込 2 丁目 2 番
8 号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてののみ): 福永 和弘 (FUKU-
NAGA, Kazuhiro) [JP/JP]; 〒426-8646 静岡県 藤枝市 源
助 301 科研製薬株式会社 総合研究所内 Shizuoka
(JP). 緒方 裕二 (OGATA, Yuji) [JP/JP]; 〒113-8650 東
京都文京区本駒込 2 丁目 2 番 8 号 科研製薬株
式会社内 Tokyo (JP). 古川 明彦 (FURUKAWA, Aki-
hiko) [JP/JP]; 〒113-8650 東京都文京区本駒込 2 丁
目 2 番 8 号 科研製薬株式会社内 Tokyo (JP). 今野
芳浩 (KONNO, Yoshihiro) [JP/JP]; 〒426-8646 静岡県
- 添付公開書類:
— 国際調査報告書
- 2 文字コード及び他の略語については、定期発行される
各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語
のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: DENTAL VISCOUS PHARMACEUTICAL CONTAINING BASIC FIBROBLAST GROWTH FACTOR

(54) 発明の名称: 塩基性線維芽細胞増殖因子含有歯科用粘稠製剤

(57) Abstract: A dental viscous pharmaceutical preparation comprising a basic fibroblast growth factor (bFGF) as an active ingredient together with a thickener; a kit for preparing dental viscous pharmaceuticals; and a method of preparing dental viscous pharmaceuticals.

(57) 要約: 本発明は、塩基性線維芽細胞増殖因子 (bFGF) を有効成分として含有し、更に増粘剤を含有する歯科用粘稠製剤; 歯科用粘稠製剤を調製するためのキット; 並びに歯科用粘稠製剤を調製する方法を提供するものである。

明 細 書

塩基性線維芽細胞増殖因子含有歯科用粘稠製剤

5 技術分野

本発明は、歯周病などの各種歯周疾患の処置に使用しうる塩基性線維芽細胞増殖因子含有歯科用粘稠製剤に関する。

背景技術

- 10 b F G F、つまり塩基性線維芽細胞増殖因子は、線維芽細胞の増殖を著しく促進する蛋白質として見出された。その後、in vitroにおいて線維芽細胞の増殖を促進するのみならず、血管内皮細胞、血管平滑筋細胞、上皮細胞などの種々の細胞に対してもその増殖や遊走、分化に対する促進作用を有することが明らかにされてきた。また、in vivoにおいても、強力な血管新生作用を有す
- 15 ることが明らかになってきた。b F G Fはこのような薬理作用を持つことから、難治性皮膚潰瘍の治療剤として開発が進められ、臨床研究において優れた治療効果と安全性が確認され、現在、市販されている。また、b F G Fは骨組織に対しても有用な作用を示し、骨折治癒を促進する。更に、投与した局所において骨組織の形成を誘発する新しいタイプの骨形成促進剤として、骨折をは
- 20 じめ骨形成が求められる種々の骨疾患への臨床応用が期待されている。b F G Fは、更に、歯周組織欠損部位へ投与されると、歯槽骨形成（骨密度、歯槽骨面積、骨梁面積）を促進し、露出歯根面におけるセメント質形成及び歯根膜再生を促進することにより、歯周組織をバランス良く再生することが明らかになってきた。このことから、歯周病治療の最終目的である再生治癒、新付着治癒を導くのに有効であることが認められている。また、抜歯後及び嚢胞又は口
- 25 腔がん摘出後の歯周組織の修復、インプラント材の定着促進、う蝕により欠損した象牙質の再生など各種歯周疾患の処置に有用であると考えられている。なかでも慢性的な組織欠損である歯周病への適応が考えられている（WO 9 5 /

05840)。

一方、bFGFは、強力かつ多様な薬理作用を有することを考慮すると、bFGFの作用を必要とする患部のみに直接投与されるのが望ましい。bFGFを各疾患に効率よく適応するにはそれぞれに適した製剤設計が必要である。実
5 際、難治性皮膚潰瘍には噴霧製剤、骨疾患に対してはゲル製剤のように疾患に適した製剤化が行われている。しかし、歯周病などの各種歯周疾患に直接的に効率よく適用することができる有用なbFGF製剤は、これまで開発されていなかった。

一方、一般に歯科用製剤の剤型としてはパスタ剤、液剤、軟膏剤及びゲル剤
10 などが知られている。しかし、bFGFは物理化学的に不安定であること、また薬効用量が低含量であることから、その剤型や製造条件に制約を受け、特にパスタ剤や軟膏剤の開発は困難であると考えられていた。その一方、bFGFを含有する液剤及びゲル剤は用時調製型の製剤とすることで、開発可能と考えられていた。各種歯周疾患、特に歯周病治療におけるbFGFの臨床応用にお
15 いては、フラップ手術時（歯肉を開き歯石等を除去する術式）に歯槽骨再生を期待して歯肉内へ投与することが予想される。しかし、液剤では上顎部への投与の場合に液垂れにより患部に製剤が十分な時間保持されず、患部へ効率よく投与できないことが懸念される。そこで、その欠点を補う製剤としてゼリー状のゲル製剤が考えられる。ゲル製剤は、低含量の薬剤を定量的に多様な形状か
20 らなる患部に均一に塗布するのに好ましい剤型であるとは言えない。特にゲル製剤の場合、その基剤が患部に長期間残存すると組織の修復を阻害することが予想され、さらに、患者が異物としての不快感を訴えることも予想される。そのため、その基剤は投与後一定の時間患部に保持された後は速やかに分解もしくは消失するような高機能性のものである必要があるが、このような基剤は、
25 高価であるという欠点を有している。

従って、bFGFを歯周病などの各種歯周疾患の治療剤として開発するためには、bFGFを安定に保持し、低含量のbFGFを小さな容積からなる患部に、液垂れを抑え、多様な形状に均一に塗布することができることが望まし

い。また、塗布後は組織の修復を阻害しない程度に貯留した後は速やかに分解もしくは消失し、より効率的に塗布できる安価な材料からなる歯科用製剤の開発が望まれていた。

- 5 本願発明者らは、上記の課題を解決すべく鋭意研究した結果、b F G Fを、溶液にした場合に一定の粘度を維持することができる増粘剤と配合し、粘稠性の製剤とすることによって、b F G Fを安定に保持し、低含量のb F G Fを定量的かつ多様な形状の患部に均一に塗布することができ、局所貯留性にすぐれた製剤が得られることを発見し、本発明を完成するに至った。

10 発明の開示

本発明は、塩基性線維芽細胞増殖因子（b F G F）を有効成分として含有し、更に増粘剤を含有する歯科用粘稠製剤に関する。

- 15 本発明の歯科用粘稠製剤においては、一定の粘度を有する増粘剤を配合することにより、粘稠製剤の適度な粘性と局所貯留性が確保され、それにより患部へのb F G F投与をより確実なものとすることができる。

- 20 本発明はまた、本発明の歯科用粘稠製剤を調製するためのキットであって、b F G F、増粘剤、必要であれば不活性で無毒性の添加剤、及び溶解液を含むキット、並びに本発明の歯科用粘稠製剤を調製する方法であって、b F G F、増粘剤、及び必要であれば不活性で無毒性の添加剤を溶解液に溶解することを特徴とする方法にも関する。

図面の簡単な説明

図1は、本発明の歯科用粘稠製剤及びb F G F水溶液からのb F G Fの放出曲線を示す図であり、

- 25 図2は、本発明の歯科用粘稠製剤及びb F G F水溶液をラットに筋肉内投与後の組織中¹²⁵Iラベル化b F G Fの残存率を示す図であり、

図3は、本発明の歯科用粘稠製剤及びb F G F水溶液をウサギ下顎骨欠損部位に投与した場合の投与直後に対する投与6時間後の¹²⁵Iラベル化b F G Fの

残存率 (%) を示す図である。

発明を実施するための最良の形態

本発明の歯科用粘稠製剤は、b F G Fを有効成分として含有し、更に増粘剤
5 を含有する歯科用粘稠製剤である。ここでいう粘稠製剤とは、25℃で、E型
粘度計を使用して測定した場合に約20～25,000mPa・sの粘度を示す製
剤を意味する。本発明の歯科用粘稠製剤は、好ましくは、約1,000～2
0,000mPa・s、特に好ましくは約3,000～15,000mPa・sの粘度を
有する。

10 本発明の歯科用粘稠製剤に含有されるb F G Fとしては、哺乳動物由来のも
のがあげられる。哺乳動物としては、ヒト、サル、ブタ、ウシ、ヒツジ、ウマ
などがあげられる。これらの哺乳動物からは、公知の方法によりb F G Fを得
ることができ、また動物由来のb F G F、例えばウシb F G Fは、複数の会社
から試薬として市販されている。

15 また、該b F G Fとしては、組換えDNA技術によって製造されたものを用
いることもできる。組換えDNA技術によりb F G Fを製造するには、例えば
特公表63-500843号に記載の技術を用いることができる。また組換え
DNA技術により製造されたヒトb F G Fは、試薬として販売されており、一
般名：トラフェルミン（遺伝子組換え）を、好ましく使用することができる。

20 本願の歯科用粘稠製剤のb F G F濃度は、その歯周疾患に対する効果を考慮
すると、製剤の総重量に対して、好ましくは約0.0001～20重量%、よ
り好ましくは約0.001～10重量%、最も好ましくは約0.01～1重
量%である。

本発明の歯科用粘稠製剤に含有される増粘剤としては、溶液とした場合に、
25 上記の粘度（約20～25,000mPa・s）を示すことができ、b F G Fの安
定性に悪影響を及ぼさず、かつ薬学的に許容しうる増粘剤であれば任意のもの
を任意の濃度で使用することができる。具体的には、ヒドロキシプロピルセル
ロース、アルギン酸ナトリウム、アルギン酸プロピレングリコールエステル、

カルボキシビニルポリマー、カルメロースナトリウム、ヒアルロン酸、ヒアルロン酸ナトリウム、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシエチルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリアクリル酸、ポリアクリル酸ナトリウム、ポリアクリル酸部分中和物、ポリビニルアルコール、メチルセルロース、キサンタンガム、コンドロイチン酸、及びコンドロイチン硫酸ナトリウムなどを用いることができる。なかでも、bFGFの安定性に対する影響を考慮すると、ヒドロキシプロピルセルロース（HPC）、ヒアルロン酸ナトリウム、キサンタンガム、及びコンドロイチン硫酸ナトリウムを好ましく使用することができるが、特にヒドロキシプロピルセルロースを好ましく使用することができる。

これらの増粘剤のほかにも、アラビアゴム、アラビアゴム末、グアガム、グルコノ- δ -ラクトン、ゼラチン、デキストラン70、デキストリン、トラガント、トラガント末、ポビドン、水アメ、ロジン、ポリオキシエチレン（160）ポリオキシプロピレン（30）グリコール、ポリオキシエチレン（200）ポリオキシプロピレングリコール（70）、及びメチルビニルエーテルと無水マレイン酸との共重合体などの増粘剤も使用することができる。

本発明の歯科用粘稠製剤において増粘剤として特に好ましく使用することができるヒドロキシプロピルセルロースは、セルロースのヒドロキシプロピルエーテル誘導体であり、乾燥したものを定量するとき、ヒドロキシプロピル基53.4～77.5%を含む（日本薬局方第14改正D）ものが好ましい。HPCは水に溶解すると粘稠性の液となるが、水溶液にした場合に25℃においてE型粘度計を使用して測定した場合に約20～25,000mPa・sの粘度を示すHPCであれば、任意の分子量のHPCを上記の粘度を示す濃度で使用することができる。しかし、低濃度で高い増粘性を示す、分子量約100,000～500,000のものを好ましく使用することができ、更に好ましくは110,000～400,000のものである。例えば分子量約110,000～150,000のHPCを使用する場合であれば、日本曹達（株）製のHPC-Mを、製剤全体に対して、好ましくは約2～18重量%の割合で、より好

- ましくは約3～10重量%の割合で 사용할 ことができる。また、分子量約250,000～400,000のHPCを使用する場合であれば、日本曹達(株)製のHPC-Hを、製剤全体に対して、好ましくは約1～9重量%の割合で、より好ましくは約2～6重量%の割合で 사용할 ことができる。上記の
- 5 粘度を達成することができる範囲で、異なる分子量のHPCを適宜混合して使用する こともできる。

- また、ヒアルロン酸ナトリウム、キサンタンガム、及びコンドロイチン硫酸ナトリウムを増粘剤として使用する 場合も、上記の粘度を達成することができる範囲の濃度で使用する ことができる。例えばヒアルロン酸ナトリウムを使用
- 10 する場合、分子量約60万～90万のものであれば、約1重量%の濃度で使用する ことができる。キサンタンガムを使用する場合、分子量約200万のものであれば、約1重量%の濃度で使用する ことができる。その他の増粘剤についても、上記の粘度を達成することができる範囲の濃度で使用する ことができる。

- 15 本発明の歯科用粘稠製剤には、必要に応じて更に糖類、pH調節剤、保存剤、キレート剤、乳化剤、懸濁化剤、安定剤、着色料などの薬学的に許容しうる添加剤を各種含有させることができる。糖類としては、ショ糖、トレハロース等が挙げられ、特にショ糖を好ましく使用する ことができる。また、本発明の歯科用粘稠製剤のpHは、約4.5～8、特に4.5～6.5に保持するの
- 20 が望ましく、このpHを保持するためのpH調製剤としては、クエン酸とクエン酸ナトリウム又は酢酸と酢酸ナトリウムからなる緩衝液が挙げられる。防腐剤及びキレート剤としては、それぞれ塩化ベンザルコニウム及びエデト酸ナトリウムが挙げられる。

- 本発明の歯科用粘稠製剤は、bFGFに上記増粘剤を配合し、溶解液に溶解
- 25 して所定の粘度を有する溶液とすることにより調製することができる。製剤全体に対するbFGFの比率は、上述したように、好ましくは約0.0001～20重量%、より好ましくは約0.001～10重量%、最も好ましくは約0.01～1重量%であり、このような割合になるようにbFGFを配合す

る。また、溶解液としては、水を好ましく使用することができる。製剤全体に対する増粘剤の使用比率は、用いる増粘剤の種類により異なるが、溶液の状態で約20～25, 000mPa・sの粘度を示す範囲で決定することができる。例えば増粘剤として分子量約110,000～150,000のHPCを用いる
5 場合、約2～18重量%の割合、好ましくは約3～10重量%の割合になるように増粘剤を溶解液に溶解する。また、分子量約250,000～400,000のHPCを使用する場合であれば、約1～9重量%の割合、好ましくは約2～6重量%の割合になるように増粘剤を溶解液に溶解する。

本発明の歯科用粘稠製剤を調製するには、例えば、粉末状のHPCにbFGF
10 Fの水溶液を添加し、混合することにより、又はHPCを水に溶解することによりHPC粘稠水溶液を得、これにbFGFの水溶液を混合するなどの方法を用い、適宜必要に応じて調製することができる。調製のための具体的方法については、以下の実施例に各種具体的に記載するが、これらに限定されず、当業界の技術常識の範囲内で適宜調製することができる。更に、上記のようにして
15 調製した本発明の歯科用粘稠製剤は、bFGFの長期安定性を確保するためにその製剤を凍結乾燥し、用時、水を加えて再調製することも可能である。また、bFGFは、凍結乾燥状態で保存しておき、用時、HPCの粘稠水溶液を加え調製してもよい。

したがって、本発明はまた、本発明の歯科用粘稠製剤を調製するためのキット
20 トであって、bFGF、増粘剤、必要であれば不活性で無毒性の添加剤、及び溶解液を含むキット、並びに本発明の歯科用粘稠製剤を調製する方法であって、bFGF、増粘剤、及び必要であれば不活性で無毒性の添加剤を溶解液に溶解することを特徴とする方法にも関する。

また、本発明の歯科用粘稠製剤は、適用法によつては、無菌状態であること
25 が必要であるため、調製するにあたっては、予め、bFGF溶液をろ過滅菌したり、HPC粉末を放射線滅菌や乾熱滅菌したり、また、HPC粘稠液をオートクレーブ滅菌するなどの方法により、無菌状態を確保することができる。

上記の方法により調製した本発明の歯科用粘稠製剤は、軟膏剤、ゲル剤、パ

スタ剤及び液剤などと同様な方法により、各種歯周疾患の患部へ直接投与することができる。例えば、18G程度の太さの注射針を取り付けた2mlの注射筒で粘稠製剤を適量取り、患部に広くおよび大量に投与する場合は、注射針は18Gのままで投与する。また、歯周ポケットのように小さな隙間に投与する場合は、26G程度の注射針に付け直して投与することもできる。簡易型注射器具のようなキット製品のリザーバー部分にあらかじめ充填しておき、投与することも可能である。

また、患部に直接又はヘラなどに別にとって塗ることも可能である。それ以外にも、加圧式定量ポンプなどから必要量を取り、患部に直接又はヘラなどで別にとって塗ることが可能である。

本発明の歯科用粘稠製剤を投与する量は、適用する歯周疾患の種類、重症度、罹患範囲、患者の性別、体重などによって適宜変更することができるが、一般的には、ヒトの場合、一回の投与により約0.1～3000 μ g、好ましくは1～1500 μ gのbFGFが患部に適用される量の製剤を適用するのが好ましい。

本発明の歯科用粘稠製剤は、上述したように歯周病をはじめとして抜歯後及び嚢胞又は口腔がん摘出後の歯周組織の修復、インプラント材の定着促進、う蝕により欠損した象牙質の再生など歯周疾患の治療又は予防を目的として適用することができる。例えば歯周病の場合は、直接患部へ投与することができるが、フラップ手術において歯根面を露出させる場合には、その露出面に、本発明の歯科用粘稠製剤を塗布、注入などする。投与回数は、歯周疾患の種類、重症度などによって異なるが、例えば歯周病におけるフラップ手術において使用する際は、歯根面などの患部に投与した後患部を縫合するため、本製剤は一回投与するのみである。

25

実施例

以下に、本発明の歯科用粘稠製剤について更に詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。なお、以下の実施例及び試験例において使

用するヒトbFGFとしては、トラフェルミン（遺伝子組換え）を用いた。

実施例 1

- 水 485ml に HPC（HPC-H（日本曹達製）、15.0g）を徐々に添加し、粒子が完全に分散溶解するまで攪拌を続けて、HPC 粘稠液を得た。アンプルに 2ml ずつ分注した後融封し、オートクレーブ滅菌した。得られた HPC 粘稠液は、10082.0mPa・s の粘度を有していた（25℃で E 型粘度計を使用して測定した。また以降の実施例及び試験例においては、特に断らない限り、粘度は実施例 1 と同じ条件で測定した）。別に、それぞれ 0.89 又は 2.67mg/ml のヒト bFGF を含有するクエン酸塩／ショ糖緩衝液（pH 5.1、1.0ml）をろ過滅菌し、バイアル中で凍結乾燥した。これら凍結乾燥品に、上記の滅菌した HPC 粘稠液（1.0ml）を加えて、攪拌し、静置脱泡を行い、本発明の歯科用粘稠製剤を得た（それぞれ製剤例 1a（0.89mg/ml）、製剤例 1b（2.67mg/ml）とする）。

実施例 2

- 水 87ml に HPC（HPC-H（日本曹達製）、3.0g）およびショ糖 9.0g を徐々に添加し、粒子が完全に分散溶解するまで攪拌を続けて、HPC 粘稠液を得た。この HPC 粘稠液を冷却、攪拌しながら、10.1mg/ml のヒト bFGF を含有するクエン酸塩緩衝液（pH 5.1、1.0ml）を徐々に添加し、均一になるまで攪拌し、本発明の歯科用粘稠製剤を得た。

20 実施例 3

- 0.89、2.67、又は 8.00mg/ml のヒト bFGF を含有するクエン酸塩／ショ糖緩衝液（pH 5.1、1.0ml）をろ過滅菌し、バイアル中で凍結乾燥した。この凍結乾燥品に注射用水 1ml を加えて溶解後、HPC（HPC-H（日本曹達製）、30mg）を徐々に加えて溶解し、本発明の歯科用粘稠製剤を得た。

実施例 4

0.89、2.67、又は 8.00mg/ml のヒト bFGF を含有するクエン酸塩／ショ糖緩衝液（pH 5.1、1.0ml）をろ過滅菌し、HPC（HPC

—H（日本曹達製）、30mg）を徐々に加えて溶解後、バイアル中で凍結乾燥した。この凍結乾燥品に、水（1ml）を加えて、本発明の歯科用粘稠製剤を得た。

実施例 5

- 5 0.89、2.67、又は8.00mg/mlのヒトbFGFを含有するクエン酸塩／ショ糖緩衝液（pH5.1、1.0ml）をろ過滅菌し、バイアル中で凍結乾燥した。別に、HPC（HPC—H（日本曹達製）、30mg）を徐々に水（1ml）で溶解後、バイアル中で凍結乾燥した。これら凍結乾燥品に水（0.5mlずつ）を加えて溶解し、両者を混和し、本発明の歯科用粘稠製剤を得た。

10 実施例 6

0.89、2.67、又は8.00mg/mlのヒトbFGFを含有するクエン酸塩／ショ糖緩衝液（pH5.1、1.0ml）をろ過滅菌し、HPC（HPC—H（日本曹達製）、30mg）を徐々に加えて溶解し、本発明の歯科用粘稠製剤を得た。

15 実施例 7

HPC（HPC—H（日本曹達製）、60mg）に水（1ml）を加えて溶解し、これを、ろ過滅菌した5.34mg/mlのヒトbFGFを含有するクエン酸塩／ショ糖緩衝液（pH5.1、1.0ml）に加えて混和し、本発明の歯科用粘稠製剤を得た。

20 実施例 8

HPC（HPC—H（日本曹達製）、30mg）を徐々に水（1ml）に溶解した後、バイアル中で凍結乾燥した。この凍結乾燥品にろ過滅菌した0.89、2.67、又は8.00mg/mlのヒトbFGFを含有するクエン酸塩／ショ糖緩衝液（pH5.1、1.0ml）を加えて溶解し、本発明の歯科用粘稠製剤を得た。

25

実施例 9

HPC（HPC—H（日本曹達製）、60mg）を徐々に水（1ml）に溶解した後、バイアル中で凍結乾燥した。この凍結乾燥品に水（1ml）を加えて溶解

し、ろ過滅菌した0.89、2.67、又は8.00mg/mlのヒトbFGFを含有するクエン酸塩／ショ糖緩衝液（pH5.1、1.0ml）を加えて混和し、本発明の歯科用粘稠製剤を得た。

試験例1

- 5 本発明の歯科用粘稠製剤中のbFGFの安定性を検討した。

実施例1で得た製剤（1a、1b）を25℃の恒温室に保存し、経時的にHPLC法によりbFGFの残存率を測定した。その結果を表1に示す。

表 1

時間 (hr)	bFGF残存率 (%)	
	製剤 1 a	製剤 1 b
8	98.7	98.6
24	98.1	99.6
42	99.1	98.9

10

表1に示す結果より、本発明の歯科用粘稠製剤は、調製の42時間後でも、bFGFを安定に保持していることが確認された。

試験例2

- 15 フランツ型拡散セルを用いて、実施例1で得た製剤（1b）の薬物放出性を、対照としてbFGFの水溶液（bFGF濃度：0.267重量%）を用い、その拡散セルのレセプター相へのbFGF放出率を検討した。セルロース製の膜を通過してくるレセプター相のbFGFの量を経時的にHPLC法で定量し、bFGF放出率を求めた。レセプター液にはクエン酸塩／ショ糖緩衝液を使用した。その結果を図1に示した。

- 20 図1に示す結果によると、本発明の歯科用粘稠製剤は、bFGF水溶液よりも長時間にわたってbFGFを局所に貯留させる傾向を示し、長時間にわたって一定速度でbFGFを放出するパターンを示した。

試験例3

SD系雄性ラット（7週齢）の左後肢の腓骨近傍に、¹²⁵Iラベル化bFGF

を含有する本発明の歯科用粘稠製剤（bFGF濃度：0.97mg/ml；HPC濃度：3%；粘度：10423mPa・s）又は¹²⁵Iラベル化bFGF水溶液を筋肉内投与（50μl）した。bFGF投与量は、ラット1匹当たり48.52μg、放射ラベル化bFGFとしては、1匹当たり264.29kBqであった。

- 5 投与15分後、30分後及び6時間後に投与部位での¹²⁵Iラベル化bFGFを測定した。投与した組織中の放射能残存率を図2に示した。各値は、3例の平均±標準偏差を表す。

- 図2に示す結果によると、本発明の歯科用粘稠製剤を筋肉内投与すると、bFGF水溶液を投与した場合と比べて、bFGFの血中への移行が遅く、本発明の粘稠製剤を投与されたラットでは、投与15分後でも、放射ラベル化bFGFの90.6%が投与部位に残存しており、bFGF水溶液を投与した場合と比較すると、本発明の製剤を投与した方が、投与部位におけるbFGF残存率が有意に高かった（0.01<p≤0.05、Studentのt検定）。また、投与6時間後まで水溶液よりも本発明製剤の方が、投与部位でのbFGFの残存率
15 が高かった。

試験例4

- 比放射能約25kBq/μgの¹²⁵Iラベル化bFGFを用い、ウサギの右側下顎骨の欠損部位に、以下の表2に示す組成の本発明の歯科用粘稠製剤又は¹²⁵Iラベル化bFGF水溶液50μlを投与し、投与6時間後の¹²⁵Iラベル化bFGF
20 Fの残存率を測定した。

表 2

	¹²⁵ I ラベル化 b F G F 濃度	H P C 濃度	粘度 (mPa・s)	b F G F 投与量 (μg)
¹²⁵ I ラベル化 b F G F 水溶液	0. 9 9 mg/ml	0	0	4 9. 5
本発明の 粘稠製剤 1	1. 6 7 mg/ml	1 %	5 3	8 3. 5
本発明の 粘稠製剤 2	1. 7 1 mg/ml	2 %	1 1 2 6	8 5. 5
本発明の 粘稠製剤 3	1. 0 5 mg/ml	3 %	7 8 9 8	5 2. 5

- 具体的には、ウサギをネンブタール麻酔下（5 0 mg/ml溶液を約 3 ml投与）
- 5 に、腹ばいに保持し、キシロカインにより局所麻酔し（約 2 0 mg/ml溶液を約 1 ml投与）、切歯から臼歯に向けて右側の下顎骨に沿って歯肉を切開し、骨膜を剥離して右側下顎骨の下顎体切歯部に 2 壁性欠損を作成した（頬舌幅：約 4 mm；近遠心幅：約 8 mm；深さ：約 4 mm）。止血後、本発明の歯科用粘稠製剤又は¹²⁵I ラベル化 b F G F 水溶液 5 0 μlを右側下顎骨の欠損部位に投与し、3
- 10 0 秒間静止してから、切開した歯肉を欠損部位にかぶせて縫合した。投与 6 時間後に全採血後、右側下顎骨（欠損部位を含む右切歯から前臼歯の手前まで）および切開・縫合した歯肉を摘出し、γ カウンターで放射活性を測定した。投与直後に対する投与 6 時間後の¹²⁵I ラベル化 b F G F の残存率（%）を表 3 に示すとともに、図 3 に示す。

15

表 3

ウサギ下顎骨欠損部位における ¹²⁵ I ラベル化 b F G F の残存率（%）			
¹²⁵ I ラベル化 b F G F 水溶液	本発明の 粘稠製剤 1	本発明の 粘稠製剤 2	本発明の 粘稠製剤 3
2 7. 2	5 0. 7	5 4. 0	7 3. 0

上記の結果より、b F G F 水溶液を投与した場合に比べて、本発明の粘稠製

- 剤を投与した場合、投与6時間後でも、投与部位、特に右歯肉にbFGFが高濃度で残存していることが認められ、この残存率は、本発明の粘稠製剤に含まれるHPC濃度が高いほど高かった。これらの結果から、本発明の粘稠製剤は、bFGF水溶液に比べて、投与後も長時間にわたって投与部位に高濃度に
- 5 bFGFを残存させることが示された。

産業上の利用可能性

- 本発明の歯科用粘稠製剤は、塩基性線維芽細胞増殖因子（bFGF）を有効成分として含有し、更に増粘剤を含有することにより一定の粘度を有する。そ
- 10 の結果、有効成分のbFGFが物理化学的に安定に保持され、歯周病などの各種歯周疾患の処置剤として患部に適用する際には、疾患部位に均一に塗布することができ、患部への刺激や異物感が少なく、適用された製剤が適用部位から流れ落ちることなく比較的長時間貯留することにより、製剤に含まれるbFGFが安定して患部に放出され、その結果として優れた治療効果が得られる。く
- 15 わえて、本発明の製剤は、流動性があることから疾患部の凹凸や隙間などにも対応し、正確に投与することが可能である。

請 求 の 範 囲

1. 塩基性線維芽細胞増殖因子 (b F G F) を有効成分として含有し、更に増粘剤を含有する歯科用粘稠製剤。
- 5 2. 増粘剤が、ヒドロキシプロピルセルロース、アルギン酸ナトリウム、アルギン酸プロピレングリコールエステル、カルボキシビニルポリマー、カルメロースナトリウム、ヒアルロン酸、ヒアルロン酸ナトリウム、ヒドロキシエチルセルロース、ヒドロキシエチルメチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、ポリアクリル酸、ポリアクリル酸ナトリウム、ポリアクリル酸部分中和物、ポリビニルアルコール、メチルセルロース、キサンタンガム、コ
10 ンドロイチン硫酸、及びコンドロイチン硫酸ナトリウムからなる群より選択される少なくとも1種である、請求の範囲第1項記載の歯科用粘稠製剤。
3. 増粘剤が、ヒドロキシプロピルセルロースである、請求の範囲第1項記載の歯科用粘稠製剤。
- 15 4. 歯周病の処置用である、請求の範囲第1項～第3項のいずれか1項に記載の歯科用粘稠製剤。
5. b F G F 含有量が、製剤の総重量に対して0.0001～20重量%である、請求の範囲第1項～第4項のいずれか1項に記載の歯科用粘稠製剤。
6. 請求の範囲第1項～第5項のいずれか1項に記載の歯科用粘稠製剤を調
20 製するためのキットであって、b F G F、増粘剤、必要であれば不活性で無毒性の添加剤、及び溶解液を含むキット。
7. 請求の範囲第1項～第5項のいずれか1項に記載の歯科用粘稠製剤を調製する方法であって、b F G F、増粘剤、及び必要であれば不活性で無毒性の添加剤を溶解液に溶解することを特徴とする方法。
- 25 8. 溶解液が水である、請求の範囲第7項記載の方法。

図 1

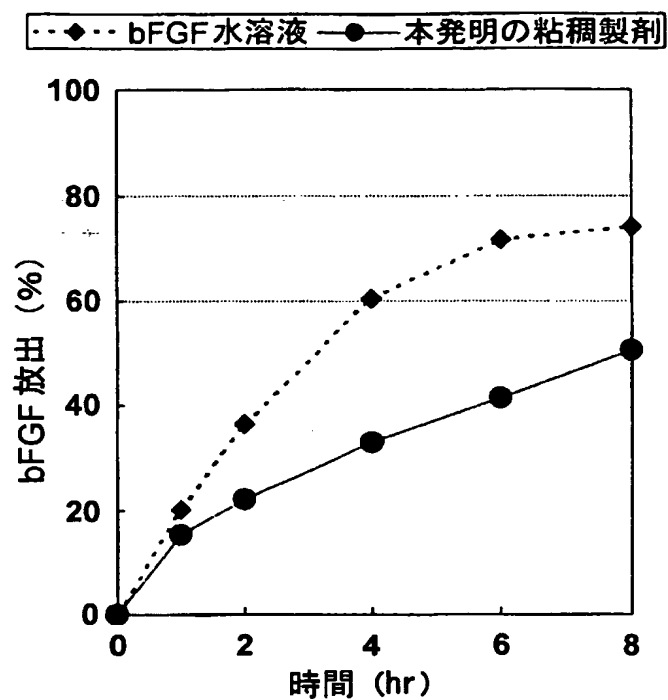


図 2

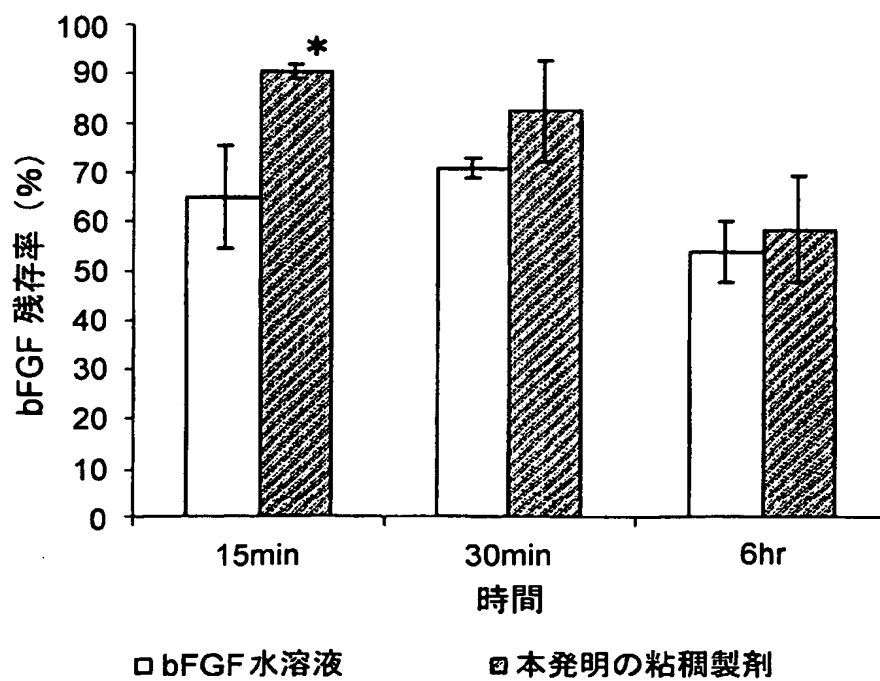
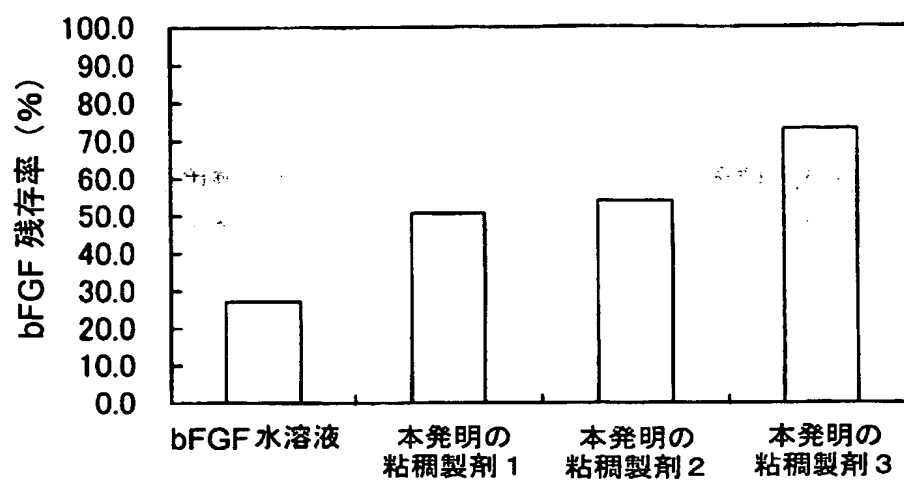


図 3



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/04166

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ A61K38/22, 47/32, 47/36, 47/38, A61P1/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ A61K38/22, 47/32, 47/36, 47/38, A61P1/02

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1926-1992	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-1996
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-1992	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2003

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CA (STN), BIOSIS (STN), MEDLINE (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	EP 677294 A1 (Kaken Pharmaceutical Co., Ltd.), 18 October, 1995 (18.10.95), Full text & WO 95/05840 A1	1-8
Y	WO 94/06399 A1 (Creative Biomolecules, Inc.), 31 March, 1994 (31.03.94), Claim 51 & JP 8-501779 A	1, 4-8
Y	JP 8-295637 A (The Green Cross Corp.), 12 November, 1996 (12.11.96), Claims (Family: none)	1-8

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
04 June, 2003 (04.06.03)

Date of mailing of the international search report
17 June, 2003 (17.06.03)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP03/04166

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	EP 256611 A1 (Squibb Japan, Inc.), 24 February, 1988 (24.02.88), Claim 8 & JP 63-152311 A	1-8

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K38/22, 47/32, 47/36, 47/38, A61P1/02

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A61K38/22, 47/32, 47/36, 47/38, A61P1/02

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1926-1992

日本国公開実用新案公報 1971-1992

日本国登録実用新案公報 1994-1996

日本国実用新案登録公報 1996-2003

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN), BIOSIS (STN), MEDLINE (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	EP 677294 A1 (Kaken Pharmaceutical Co., Ltd.) 1995. 10. 18 全文 & WO 95/05840 A1	1-8
Y	WO 94/06399 A1 (Creative Biomolecules, Inc.) 1994. 03. 31 Claims 51 & JP 8-501779 A	1,4-8

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

04. 06. 03

国際調査報告の発送日

17.06.03

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

岩下 直人

4C

9841

電話番号 03-3581-1101 内線 3451



C (続き) . 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	JP 8-295637 A (株式会社ミドリ十字) 1996. 11. 12 特許請求の範囲 (ファミリーなし)	1-8
Y	EP 256611 A1 (Squibb Japan, Inc.) 1988. 02. 24 Claims 8 & JP 63-152311 A	1-8